

学校编码: 10384

分类号 密级

学号: 21620071151889

UDC

厦门大学

硕士学位论文

罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的分离纯化及性质研究

Purification and Characterization of Trypsin and
Chymotrypsin from Tilapia (*Oreochromis
niloticus* × *O. aureus*)

高智星

指导教师姓名: 王勤副教授、陈清西教授

专业名称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2010 年 04 月

论文答辩时间: 2010 年 05 月

学位授予日期: 2010 年 07 月

答辩委员会主席: 黄耀坚

评阅人:

2010 年 06 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不含任何其他个人已经发表或撰写过的作品成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：

2010 年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（√）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期：2010 年 月 日

导师签名：

日期：2010 年 月 日

缩略语中英文对照

TAME, N^α-p-tosyl-L-arginine methyl ester, N-对甲苯磺酰基-L-精氨酸甲酯

Suc-Phe-pNA, N-Succinyl-L-phenylalanine p-nitroanilide, N-琥珀酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺

TCA, trichloroacetic acid, 三氯乙酸

PMSF, phenylmethanesulfonyl fluoride, 苯甲基磺酰氟

TLCK, N-p-tosyl-L-lysine chloromethyl ketone, N-对甲基磺酰基-L-赖氨酸氯甲基甲酮

TPCK, N-tosyl-L-phenylalanine chloromethyl ketone, 对甲基磺酰基-L-苯丙氨酸氯甲基甲酮

EDTA, ethylene diamine tetraacetic acid, 乙二胺四乙酸

K_m, the Michaelis-Menten constant, 米氏常数

V_{max}, maximum velocity, 最大反应速度

K_I, inhibition, 抑制常数

IC₅₀, the inhibitor concentrations leading to 50% activity lost, 半抑制浓度

SDS-PAGE, sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, 十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳

Native-PAGE, polyacrylamide gel electrophoresis, 聚丙烯酰胺凝胶电泳

IEF-PAGE, isoelectric focusing polyacrylamide gel electrophoresis, 聚丙烯酰胺等电聚焦电泳

pI, isoelectric point, 等电点

BrAc, bromo acetic acid, 溴代乙酸

DTT, dithiothreitol, 二巯基苏糖醇

ME, β-Mercaptoethanol, β-巯基乙醇

TNBS, trinitrobenzene sulfonic acid, 三硝基苯磺酸

EDC, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, 碳化二亚胺

NBS, N-bromobutanamide, 溴代丁二酰亚胺

pCMB, p-chloromercuribenzoic, 对氯汞苯甲酸

目 录

中文摘要	1
英文摘要	3
1 引言	5
1.1 罗非鱼简介	5
1.1.1 罗非鱼特点	5
1.1.2 罗非鱼养殖	6
1.1.3 罗非鱼下脚料的潜在价值	7
1.2 蛋白酶	9
1.2.1 胰蛋白酶原和胰蛋白酶	10
1.2.2 胰凝乳蛋白酶原和胰凝乳蛋白酶	14
1.3 本课题研究意义和研究内容	18
2 实验材料、仪器与方法	20
2.1 材料与试剂	20
2.2 仪器	21
2.3 试剂处理	22
2.4 方法	23
2.4.1 蛋白质浓度的测定	23
2.4.2 胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶活力和比活力的测定	23
2.4.3 酶的分离纯化	23
2.4.4 酶的分子量测定和纯度鉴定	25
2.4.5 蛋白酶抑制剂对酶活力的影响	26
2.4.6 酶的理化性质的测定	26
2.4.7 胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶米氏常数的测定	27
2.4.8 金属离子对酶活力的影响作用	27
2.4.9 修饰剂对酶活力的影响作用	28
2.4.10 蛋白酶的 N 端序列测定	29
3 实验结果	31

3.1 罗非鱼胰蛋白酶的分离纯化及分子量测定和纯度鉴定	31
3.1.1 罗非鱼胰蛋白酶的分离纯化	31
3.1.2 罗非鱼胰蛋白酶的分子量测定和纯度鉴定	34
3.2 蛋白酶抑制剂对罗非鱼胰蛋白酶活力的影响	35
3.3 罗非鱼胰蛋白酶理化性质的测定	36
3.3.1 胰蛋白酶催化酪蛋白反应的最适 pH 及 pH 稳定性	36
3.3.2 胰蛋白酶催化酪蛋白反应的最适温度及温度稳定性	36
3.3.3 罗非鱼胰蛋白酶催化底物水解的米氏常数测定	38
3.4 金属离子对罗非鱼胰蛋白酶活力影响的研究	40
3.4.1 金属离子对罗非鱼胰蛋白酶活力的作用	40
3.4.2 Al^{3+} 对罗非鱼胰蛋白酶活力作用的抑制类型测定	44
3.4.3 Fe^{3+} 对罗非鱼胰蛋白酶活力作用的抑制类型测定	45
3.5 罗非鱼胰蛋白酶活力中心必需基团的研究	47
3.5.1 罗非鱼胰蛋白酶的化学修饰	47
3.5.2 修饰剂 BrAc 对罗非鱼胰蛋白酶抑制动力学研究	52
3.6 罗非鱼胰蛋白酶的 N 端序列测定	54
3.7 罗非鱼胰凝乳蛋白酶的分离纯化及分子量测定和纯度鉴定	55
3.7.1 罗非鱼胰凝乳蛋白酶的分离纯化	55
3.7.2 罗非鱼胰凝乳蛋白酶分子量测定和纯度鉴定	57
3.8 蛋白酶抑制剂对罗非鱼胰凝乳蛋白酶活力的影响	58
3.9 罗非鱼胰凝乳蛋白酶理化性质的测定	58
3.9.1 胰凝乳蛋白酶的等电点测定	58
3.9.2 胰凝乳蛋白酶的最适 pH 及 pH 稳定性	59
3.9.3 胰凝乳蛋白酶的最适温度及温度稳定性	60
3.9.3 胰凝乳蛋白酶催化底物水解的米氏常数测定	60
3.10 金属离子对罗非鱼胰凝乳蛋白酶活力影响的研究	62
3.10.1 金属离子对罗非鱼胰凝乳蛋白酶活力的作用	62
3.10.2 Al^{3+} 对胰凝乳蛋白酶活力作用的抑制类型测定	66
3.10.3 Cu^{2+} 对胰凝乳蛋白酶活力作用的抑制类型测定	67

3.11 罗非鱼胰凝乳蛋白酶活力中心必需基团的研究	69
3.11.1 罗非鱼胰凝乳蛋白酶的化学修饰	69
3.11.2 修饰剂 DTT 对胰凝乳蛋白酶抑制动力学研究	71
第四章 讨论	73
4.1 罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的分离纯化和分子量的测定	73
4.2 蛋白酶抑制剂对胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的作用和理化性质的研究	73
4.3 金属离子对罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶活力的影响	75
4.4 罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的化学修饰	76
4.5 罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶动力学研究	76
4.6 罗非鱼胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶 N 端序列的测定	77
结论	79
参考文献	81
已发表的学术论文	91
致谢	92

Contents

Chinese Abstract	1
English Abstract	3
1. Introduction	5
1.1 Review of Tilapia	5
1.1.1 Tilapia features	5
1.1.2 Tilapia culture.....	6
1.1.3 The potential value of Tilapia byproduct.....	7
1.2 Protease	9
1.2.1 Trypsinogen and trypsin	10
1.2.2 Chymotrypsinogen and chymotrypsin.....	14
1.3 Significance and Contents of the Research	18
2. Materials and Methods	20
2.1 Materials and Reagents	20
2.2 Instruments	21
2.3 Reagents Processing	22
2.4 Methods	23
2.4.1 Assay of Protein Concentration	23
2.4.2 Assay of the trypsin and chymotrypsin activity.....	23
2.4.3 Purification of the enzymes	23
2.4.4 Determination of molecular weight and purity of enzyme.....	25
2.4.5 The protease inhibitor effect to the enzyme activity.....	26
2.4.6 Determination of the physical and chemical properties of enzyme.....	26
2.4.7 Determination of Michaelis constant of trypsin and chymotrypsin	27
2.4.8 The effects of metal ions and modifiers on enzyme activity	27
2.4.9 Study on essential groups of enzyme active site	28
2.4.10 Determination of N-terminal sequence of enzyme.....	29
3. Results	31

3.1 Purification of trypsin and determination of MW and purity	31
3.1.1 Purification of trypsin from Tilapia	31
3.1.2 Determination of MW and purity of trypsin from Tilapia	34
3.2 Effects of protease inhibitors on the trypsin from Tilapia	35
3.3 Determination of properties of trypsin from Tilapia	36
3.3.1 Determination of Optimum pH and pH Stability of trypsin	36
3.3.2 Determination of Optimum temperature and thermal Stability	36
3.3.3 Determination of Michaelis constant of trypsin from Tilapia	38
3.4 Study on metal ions affect trypsin activity	40
3.4.1 Effects of metal ions on trypsin from Tilapia	40
3.4.2 Determination of inhibition type of Al^{3+} on trypsin from Tilapia	44
3.4.3 Determination of inhibition type of Fe^{3+} on trypsin from Tilapia	45
3.5 Study on essential groups of trypsin active site from Tilapia	47
3.5.1 Chemical modification on trypsin from Tilapia	47
3.5.2 Inhibition kinetics research of BrAc on trypsin from Tilapia	52
3.6 Determination of N-terminal sequences of trypsin from Tilapia	54
3.7 Purification of chymotrypsin and determination of MW and purity	55
3.7.1 Purification of chymotrypsin from Tilapia	55
3.7.2 Determination of MW and purity of chymotrypsin from Tilapia	57
3.8 Effects of protease inhibitors on the chymotrypsin from Tilapia	58
3.9 Determination of properties of chymotrypsin from Tilapia	58
3.9.1 Determination of isoelectric point of chymotrypsin	58
3.9.2 Determination of Optimal pH and pH Stability of chymotrypsin	59
3.9.3 Determination of Optimal temperature and thermal Stability	60
3.9.3 Determination of Michaelis constant of chymotrypsin	60
3.10 Study on metal ions affect chymotrypsin activity	62
3.10.1 Effects of metal ions on chymotrypsin from Tilapia	62
3.10.2 Determination of inhibition type of Al^{3+} on chymotrypsin	66
3.10.3 Determination of inhibition type of Cu^{2+} on chymotrypsin	67
3.11 Study on essential groups of chymotrypsin active site from Tilapia	69

3.11.1 Chemical modification on chymotrypsin from Tilapia.....	69
3.11.2 Inhibition kinetics research of DTT on chymotrypsin from Tilapia ...	71
4. Discussion	73
4.1 Purification and determination of MW of trypsin and chymotrypsin	73
4.2 Study effects of inhibitors and properties on trypsin and chymotrypsin .	73
4.3 Effects of metal ions on trypsin and chymotrypsin	75
4.4 Chemical modification on trypsin and chymotrypsin	76
4.5 Kinetic studies of trypsin and chymotrypsin.....	76
4.6 Determination of N-terminal sequences of trypsin and chymotrypsin	77
Conclusions	79
References.....	81
Papers.....	91
Acknowledgements.....	92

摘要

罗非鱼是我国淡水养殖业的重要品种,为世界性养殖鱼类之一。我国是罗非鱼产量和出口最高的国家,鱼体加工后产生大量下脚料,下脚料中罗非鱼的内脏可用于生产蛋白酶。胰蛋白酶(Trypsin, EC 3.4.21.4)和胰凝乳蛋白酶(Chymotrypsin, EC 3.4.21.1),是丝氨酸蛋白酶家族中的水解酶,是鱼体内十分重要的消化酶。本课题以淡水罗非鱼为研究对象,对其内脏中的胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶进行分离纯化,并研究其性质,为罗非鱼加工后下脚料的再利用提供理论基础。

以厦门市场买来的罗非鱼为材料,通过丙酮沉淀,匀浆抽提,硫酸铵分级分离, Sephacryl S-200 分子筛柱层析和 DEAE-sephacel 或 DEAE-32 阴离子交换柱层析,分别从肠和肝胰脏中分离纯化了胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶。SDS-PAGE 和 Native-PAGE 结果显示胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶均得到了高度纯化,分子量分别为 22 KDa 和 26 KDa。丝氨酸蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟(PMSF)和胰蛋白酶抑制剂 N-对甲基磺酰基-L-赖氨酸氯甲基甲酮(TLCK)对胰蛋白酶有较强的抑制剂作用, PMSF 和胰凝乳蛋白酶抑制剂对甲基磺酰基-L-苯丙氨酸氯甲基甲酮(TPCK)对胰凝乳蛋白酶有很强的抑制效果,胰凝乳蛋白酶的等电点 pI 约为 6.2。研究表明,胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶的最适 pH 分别为 pH 9.0 和 pH 8.0,最适温度分别为 60℃和 50℃。胰蛋白酶在 pH 7.0-13.0,温度小于 55℃环境下活性较稳定,胰凝乳蛋白酶在 pH 7.5-13.0,温度小于 50℃环境下活性相对稳定。胰蛋白酶水解酪蛋白的 K_m 和 V_{max} 分别为 0.46 mg/mL 和 2.2 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{min})$,而胰凝乳蛋白酶水解酪蛋白的 K_m 和 V_{max} 则分别为 0.51 mg/mL 和 2.5 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{min})$ 。胰蛋白酶水解底物 N-对甲苯磺酰基-L-精氨酸甲酯(TAME)的 K_m 和 V_{max} 分别为 0.044 mmol/L 和 0.1 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$,而胰凝乳蛋白酶水解 N-琥珀酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺(Suc-Phe-pNA)的 K_m 和 V_{max} , 为 2.2 mmol/L 和 $7.5\times 10^{-3} \mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$ 。

研究金属离子对两种酶的影响表明: Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 和 Ba^{2+} 对胰蛋白酶活力几乎没有影响, Ca^{2+} 有轻微激活作用,而 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 有不同程度的抑制作用, Al^{3+} 和 Fe^{3+} 对胰蛋白酶的抑制类型表现为非竞争性类型,抑制常数 K_i 分别为 1.01 mmol/L 和 0.59 mmol/L; Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ba^{2+} 和 Cd^{2+} 对胰凝乳蛋白酶活性没有影响, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Co^{2+} 对胰

凝乳蛋白酶均有一定程度激活作用, Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 和 Pb^{2+} 对该酶有不同程度的抑制作用, Al^{3+} 和 Cu^{2+} 对胰凝乳蛋白酶的抑制类型均表现为非竞争性类型, 抑制常数 K_i 分别为 1.5 mmol/L 和 0.5 mmol/L。化学修饰研究结果表明: 组氨酸的咪唑基、精氨酸残基、色氨酸的吲哚基、丝氨酸残基、赖氨酸的 ϵ -氨基和二硫键是胰蛋白酶的活性功能基团, 而半胱氨酸的巯基不是该酶活性中心必需的, BrAc 对胰蛋白酶活力的抑制表现为非竞争性抑制类型, K_i 为 13.7 mmol/L; 组氨酸的咪唑基、酸性氨基酸的侧链羧基、丝氨酸残基和二硫键是胰凝乳蛋白酶的活性必需基团, 而巯基、精氨酸残基和氨基不是该酶的功能基团, DTT 对胰凝乳蛋白酶的抑制是不可逆抑制过程。测得胰蛋白酶 N 端前 14 个氨基酸序列为 IVGGEEAAPNSWPY。

关键词: 罗非鱼; 胰蛋白酶; 胰凝乳蛋白酶; 分离纯化; 性质研究

Abstract

Tilapia is an important species of freshwater aquaculture in China, and is the one kind of farmed fish in world. China has been to the largest Tilapia producing and exporting country. During processing, the Tilapia fishery industry in China produces large quantities of waste, the tilapia viscera of the byproduct can be used to produce protease. Trypsin (EC 3.4.21.4) and Chymotrypsin (EC 3.4.21.1) are two members of the large family of serine proteinase and are very important digestive enzymes in fish. This tissue we used the Tilapia of fresh water to study the purification and characterization of Trypsin and Chymotrypsin from the viscera of Tilapia, and fill the research gaps in this area.

Tilapia was purchased from the local market at Xiamen City, we used following techniques: acetone precipitation, extraction, ammonium sulfate fractionation, Sephacryl S-200 gel filtration, and DEAE-sephacel or DEAE-32 ion exchange chromatography to purify Trypsin and Chymotrypsin from the intestine and hepatopancreas of the Tilapia, respectively. Purified trypsin and chymotrypsin revealed single bands on SDS-PAGE and Native-PAGE, the molecular weights of trypsin and chymotrypsin were 22 KDa and 26 KDa. Serine protease inhibitor PMSF and specific trypsin inhibitor TLCK could strongly inhibit the activity of our trypsin, while, the serine protease inhibitor PMSF and specific chymotrypsin inhibitor TPCK could influence the activity of our chymotrypsin, intensively. The isoelectric point (pI) of the chymotrypsin was 6.2. Trypsin and chymotrypsin exhibited maximal activity at 60 °C and 50 °C, respectively, and optimum pHs were 9.0 and 8.0. Trypsin was stable over a broad pH range from 7.0 to 13.0, and the enzyme was in active at temperatures above 55 °C, the chymotrypsin was stable up to 50 °C and in the pH range from 7.5 to 13.0. The K_m and V_{max} of trypsin were 0.46 mg/mL and 2.2 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{min})$, and the K_m and V_{max} of chymotrypsin were 0.51 mg/mL and 2.5 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{min})$ using casein as substrate, respectively. The K_m and V_{max} of trypsin were 0.044 mmol/L and 0.1 $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$ using TAME as substrate, the K_m and V_{max} of chymotrypsin were 2.2

mmol/L and 7.5×10^{-3} $\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$ when use the Suc-Phe-pNA as substrate.

The effects of several metal ions on the two enzymes activity had been studied. The results show that: Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} and Ba^{2+} had no effects on the activity of the trypsin, and the enzyme was slightly activated by Ca^{2+} but inactivated by Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Cd^{2+} and Pb^{2+} to different degrees. The inhibition of Al^{3+} and Fe^{3+} to the trypsin was non-competitive inhibition type, the inhibition constant (K_i) were 1.01 mmol/L and 0.59 mmol/L, separately. The ions Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ba^{2+} and Cd^{2+} had little effect on the chymotrypsin, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} and Co^{2+} could promote its activity, yet, the chymotrypsin was inhibited by Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Al^{3+} and Pb^{2+} . Similarly, the inhibition of Al^{3+} and Cu^{2+} to the chymotrypsin was non-competitive inhibition type, the K_i were 1.5 mmol/L and 0.59 mmol/L, respectively. The characters of functional groups of the two enzymes active site had been studied. The result showed that: the residues of histidine, arginine, tryptophan, serine, disulfide bond and ϵ -amino of lysine were essential for the trypsin catalytic activity, and the cysteine thiol was not essential for the enzyme activity. The inhibition of BrAc to the trypsin was non-competitive inhibition type, the K_i was 13.7 mmol/L; The residue of histidine, carboxyl, the residue of serine and disulfide bond were necessary for the chymotrypsin activity, while the SH, the residue of arginine and ϵ -amino were not necessary for the enzyme activity, the inactivation of DTT to the chymotrypsin was non- reversible reaction. By analysis of N-terminal sequence of the trypsin, we get the front 14 amino acid sequence of N-terminal from the trypsin.

Key words: Tilapia; Trypsin; Chymotrypsin; Purification; Characterization

1 引言

1.1 罗非鱼简介

1.1.1 罗非鱼特点

罗非鱼(Tilapia), 俗称非洲鲫鱼, 隶属于鲈形目、鲈形亚目、丽鱼科(Cichlidae)。该属原产于非洲, 有 600 多种, 目前被养殖的有 15 种。罗非鱼是一群中小型鱼类, 它的外形、个体大小有点类似鲫鱼, 鳍条多荆似鳊鱼, 鲤鱼唇边有一对须, 罗非鱼则无。罗非鱼是以植物为主的杂食性鱼类, 池塘中的罗非鱼, 消化道内含物大部分是有机碎屑及其他植物性饲料(如水草类、商品饲料等等), 其次是浮游植物、浮游动物和少量底栖动物。罗非鱼耐低氧能力很强, 窒息点为 0.07—0.23 mg/L, 水中溶氧 1.6 mg/L 时, 罗非鱼仍能生活和繁殖, 水中溶氧 3 mg/L 以上时, 生长不受影响。罗非鱼的生存温度范围为 15—35℃, 当水温低于 15℃时, 罗非鱼处于休眠状态。罗非鱼最高临界温度约 40℃—41℃, 最适宜生长温度为 28℃—32℃, 罗非鱼繁殖温度在 20℃以上^[1-4]。罗非鱼性成熟早, 产卵周期短, 口腔孵育幼鱼, 繁殖条件要求不高, 大水面静止水体自然繁殖。罗非鱼六个月即达性成熟, 重 200 g 左

右的雌鱼, 怀卵量多在 1000—1500 粒左右, 繁殖期间, 雄鱼有美丽的婚姻色彩, 腹部有肛门和泌尿生殖孔两个口, 挤压腹部有白色精液流



出, 雌鱼腹部有 3 个孔, 即肛门、生殖孔和泌尿孔^[5-8]。水温 18℃—32℃, 成熟雄鱼具有“挖窝”能力, 成熟雌鱼进窝配对, 产出成熟卵子并立刻将其含于口腔, 使卵子受精, 受精卵在雌鱼口腔内发育, 水温 25—30℃时 4~5 天即可孵出幼鱼, 幼鱼至卵黄囊消失并具有一定能力时离开母体^[9, 10]。罗非鱼的肉味鲜美, 肉质细嫩, 无论是红烧还是清烹, 味道俱佳。尼罗罗非鱼

经测定, 每 100 g 肉中含蛋白质 20.5 g, 脂肪 6.93 g, 热量 148 Kcal, 钙 70 mg, 钠 50 mg, 磷 37 mg, 铁 1 mg, 维生素 B1 0.1 mg, 维生素 B2 0.12 mg, 并含有多种不饱和脂肪酸。在日本, 称这种鱼为“不需要蛋白质的蛋白源”, 蛋白质含量非常高, 受到各国人民的喜爱, 罗非鱼已成为世界性的主要养殖鱼类^[11-16]。

1.1.2 罗非鱼养殖

目前各国已进行养殖的主要品种有: 莫桑比克罗非鱼、尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼、伽利略罗非鱼和齐利罗非鱼等。罗非鱼已是国际上养殖最广泛的品种之一, 是继三文鱼和对虾之后第三大国际贸易水产品, 也是联合国粮农组织(FAO)向世界各国推荐的养殖品种。印度 Modadugu 博士发展并散布清水养殖(使用罗非鱼)的廉价技术, 获得 2005 年世界粮食奖^[17]。罗非鱼最早于 1946 年由吴振辉、郭启鄞从新加坡引进台湾省, 为纪念这两个人, 先前称作“吴郭鱼”。1957 年从越南引进我国内地, 又名“越南鱼”, 因其原产于非洲, 形似本地鲫鱼, 故又有人叫它“非洲鲫鱼”。此后先后引入各种罗非鱼, 1978 年长江所引进尼罗罗非鱼, 是最早引入我国的尼罗罗非鱼, 目前养殖地区也较多。1988 年湖南湘湖渔场从埃及尼罗河阿斯旺坝下游引进尼罗罗非鱼, 该鱼在一些地区有养殖。1992 年淡水渔业研究中心从美国奥本大学引进了原产于尼罗河下游的尼罗罗非鱼, 也有一些良种场采用该种鱼。1999 年淡水渔业研究中心又从埃及农业和农垦部水产研究中心实验室引进了尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼, 现已推广到许多地区。奥利亚罗非鱼则主要是 1983 年由淡水渔业研究中心从美国引进, 该种鱼主要用于与尼罗罗非鱼杂交以生产全雄罗非鱼, 也是目前应用最普遍的奥利亚罗非鱼。另外, 一些单位也多次引进了各种罗非鱼, 但影响力均较小。

我国罗非鱼养殖发展极快, 南方的广东、广西、海南和福建等地是我国罗非鱼的主产区, 目前我国已是世界上罗非鱼产量最高的国家, 随着优良养殖品种和适用养殖技术的推广, 商品罗非鱼规格大幅度提高, 进一步推动了出口加工业的发展, 促使我国成为最大的罗非鱼产品出口国, 约占世界总产量的 60%^[18]。罗非鱼养殖效益高, 国内外市场相对稳定, 已成为渔民增收致富的重要手段。在众多的罗非鱼种苗中, 比较公认的是利用罗非鱼种间杂交繁育出的种苗, 这些种苗因具备杂交优势而生长速度快, 个体大, 耐寒性好, 雄性率高等特

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库